

A5

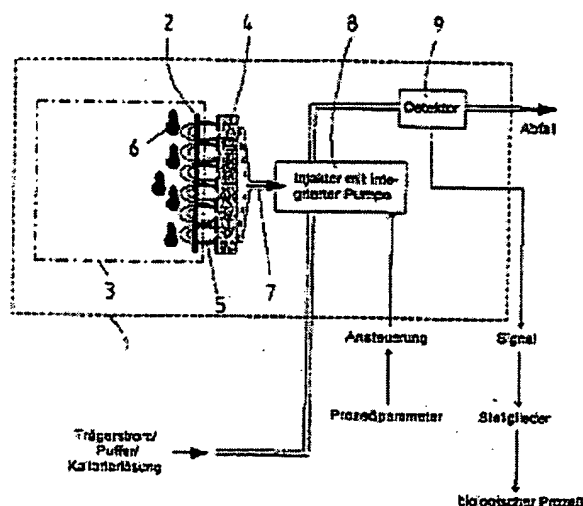
**Sterile sampling appts., esp. for bio-technical processes**

**Patent number:** DE19530886  
**Publication date:** 1996-10-02  
**Inventor:** METZE JOSEF DIPL ING DR ING (DE); GASTROCK GUNTER DIPL ING (DE); HOWITZ STEFFEN DIPL ING DR ING (DE); WEGENER THOMAS DIPL ING (DE)  
**Applicant:** INST BIOPROZESS ANALYSENMESSST (DE);; GESIM GES FUER SILIZIUM MIKROS (DE)  
**Classification:**  
- **international:** G01N1/10; C12Q1/24; C12M1/26; B01D35/20; B01D61/42  
- **europaen:** B01D61/18; B01D61/42B; B01D65/02; B01D65/08; C12M1/12; C12M1/26D; G01N1/10  
**Application number:** DE19951030886 19950811  
**Priority number(s):** DE19951030886 19950811

Report a data error here

**Abstract of DE19530886**

An arrangement for the removal under sterile conditions of samples through a filter membrane (2), esp. from a biotechnical process, has an arrangement of electrodes (4) which subject the filter membrane to an alternating electric field. The electrode arrangement, which is connected to a source of alternating current, is parallel to the membrane and comprises two electrodes, both comb-shaped, whereby the teeth of one "comb" extend into the spaces between the teeth of the other.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

**BEST AVAILABLE COPY**



DEUTSCHES  
PATENTAMT

Patentschrift  
DE 195 30 886 C 1

21 Aktenzeichen: 195 30 886.7-52  
22 Anmeldetag: 11. 8. 95  
43 Offenlegungstag: —  
46 Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung: 2. 10. 98

51 Int. Cl.<sup>6</sup>:  
G 01 N 1/10  
C 12 Q 1/24  
C 12 M 1/26  
B 01 D 35/20  
B 01 D 61/42

DE 195 30 886 C 1

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

73 Patentinhaber:

Institut für Bioprozeß- und Analysenmeßtechnik  
e.V., 37308 Heilbad Heiligenstadt, DE; GeSim  
Gesellschaft für Silizium-Mikrosysteme mbH, 01309  
Dresden, DE

74 Vertreter:

Maikowski & Ninnemann, Pat.-Anw., 10707 Berlin

72 Erfinder:

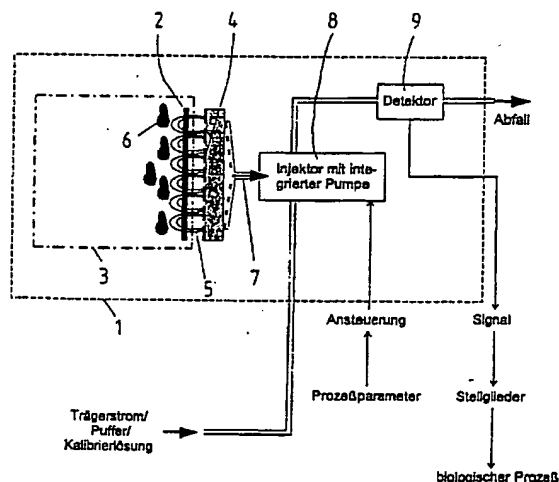
Metze, Josef, Dipl.-Ing. Dr.-Ing., 37308 Heilbad  
Heiligenstadt, DE; Gastrock, Gunter, Dipl.-Ing., 37308  
Heilbad Heiligenstadt, DE; Howitz, Steffen,  
Dipl.-Ing. Dr.-Ing., 01309 Dresden, DE; Wegener,  
Thomas, Dipl.-Ing., 16816 Neuruppin, DE

56 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit  
in Betracht gezogene Druckschriften:

DE 35 20 489 A1  
DE 93 20 577 U1  
US 39 90 988  
WO 95 22 696  
WO 92 21 433  
WO 86 07 284

64 Vorrichtung zur sterilen Entnahme von Proben über eine Filtermembran

57 Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur sterilen Entnahme von Proben, insbesondere aus einem biotechnologischen Prozeß, über eine Filtermembran. Dabei wird die Filtermembran einem elektrischen Wechselfeld ausgesetzt. Es hat sich gezeigt, daß durch ein elektrisches Wechselfeld lebendes oder abgestorbenes biologisches Material weitestgehend von der Filtermembran ferngehalten wird. Damit wird ein Verblocken der Filtermembran verhindert bzw. zeitlich verzögert. Da keine beweglichen mechanischen Baugruppen durch die Wand des Reaktors, in dem die Prozesse ablaufen, eingeführt werden müssen, entfallen Abdichtungsprobleme gegenüber dem sterilen Innenraum des Reaktors. Da weiterhin die Probenahmesonden für die Aufbringung des Wechselfeldes mechanisch nicht verändert werden müssen, kann der Aufbau der Probenahmesonden so gestaltet werden, daß das durch diese verursachte Totvolumen gering ist. Bei der Vorrichtung zur Probenahme ist im Bereich der Filtermembran (2) eine Elektrodenanordnung (4) vorgesehen, die mit einer Wechselspannungsquelle verbunden ist.



DE 195 30 886 C 1

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur sterilen Entnahme von Proben nach dem Oberbegriff des Anspruchs 1.

Für die Entnahme von Proben aus sterilen, in vitro ablaufenden Prozessen ist es bekannt, daß eine Probenahmesonde mit dem für die Entnahme der Probe entscheidenden Material, dem Filtermaterial, in das Medium ragt. Durch den von einer Filtratspumpe erzeugten Unterdruck entsteht ein Druckgradient im Filtermaterial, der eine vom Druck, Filtermaterial, Zeitdauer, Geometrie und Art des biologischen Mediums abhängige Probenmenge durch das Filtermaterial passieren läßt. Der Nachteil einer solchen Vorrichtung besteht darin, daß das Filtermaterial mit der Zeit zuwächst, d. h., es kommt zum Verblocken des Filtermaterials der Probenahmesonden, so daß aus dem sterilen Prozeß keine Probe mehr entnommen werden kann.

Bei einer zweiten Entnahmeart befindet sich die Probenahmesonde in einem Bypass (DE 35 20 489 A1), durch den das biologische Medium gepumpt werden muß. Das Abfiltrieren der Probe erfolgt wie vorher beschrieben. Der Vorteil dieser Methode besteht darin, daß infolge der durch das Umpumpen des Mediums erzeugten Relativbewegung zwischen biologischem Medium und dem Filtermaterial das Verblocken des Filters verzögert wird. Nachteilig ist der Einfluß der mechanischen Belastung der Pumpe auf das biologische Medium. Diese Belastung kann bis zur Zerstörung der Biomasse führen und wirkt sich somit limitierend auf die Einsatzbreite der Sonde aus. Nachteilig ist auch, daß das im Bypass befindliche Fermentationsmedium nicht mehr mit Nährstoffen versorgt wird.

Weiterhin ist aus dem DE 93 20 577 U1 eine Vorrichtung zur Entnahme von flüssigen Proben aus sterilen Behältern bekannt, bei der das Filter auf einer schwingungsfähigen Anordnung befestigt ist, der ein Schwingungsgenerator zugeordnet ist. Diese Vorrichtung weist den Nachteil auf, daß die schwingungsfähige Anordnung dem mechanischen Verschleiß unterliegt, da sie während des gesamten Prozeßablaufes, der sich häufig über mehrere Tage bzw. Wochen erstreckt, in Betrieb sein muß. Außerdem sind in Abhängigkeit der Frequenz der Schwingungsanordnung Einflüsse auf das biologische Medium nicht auszuschließen.

Ein weiterer Nachteil der bekannten Probenahmesonden besteht darin, daß sie wegen ihres komplizierten Aufbaus ein großes Totvolumen zwischen dem Filtermaterial und der sich anschließenden analytischen Baugruppe aufweisen. Rückvermischungseffekte und damit eine Verfälschung des Meßergebnisses sind die Folge.

Weiterhin ist aus der WO 92/21433 ein Filtrationsmodul und Filtrationsverfahren bekannt. Das Filtrationsmodul weist Elektroden zum Anlegen eines elektrischen Wechselfeldes auf. Aus der US 3 990 968 ist eine Vorrichtung zur Erhöhung des Durchflusses durch eine Membran bekannt bei dem ebenfalls ein elektrisches Wechselfeld verwendet wird. Schließlich ist aus der WO 86/07284 ein Filter bekannt, bei dem eine Filtermembran über ein piezoelektrisches Bauteil in Schwingungen versetzt wird.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, das Verblocken des Filtermaterials zeitlich weiter hinauszuschieben bzw. zu verhindern und das Totvolumen zwischen dem Filtermaterial und der analytischen Baugruppe zu minimieren.

Diese Aufgabe wird durch eine Vorrichtung mit den

Merkmale des Patentanspruchs 1 gelöst.

Bei der Vorrichtung zur sterilen Entnahme von Proben, insbesondere aus einem biotechnologischen Prozeß, über eine Filtermembran ist erfindungsgemäß vorgesehen, daß die Filtermembran einem elektrischen Wechselfeld ausgesetzt ist, wobei im Bereich der Filtermembran eine Elektrodenanordnung vorhanden ist, die mit einer Wechselspannungsquelle verbunden ist, und daß die Elektrodenanordnung aus zwei kammartig ausgebildeten Einzelelektroden besteht, die ineinandergreifend angeordnet sind, wobei die Elektrodenanordnung parallel zur Ebene der Filtermembran verläuft. Die Zinken der unterschiedlichen Kammelektroden berühren sich nicht.

Die Elektrodenanordnung ist vorzugsweise auf einer einkristallinen Siliziumscheibe aufgebracht, die im Bereich der Elektrodenanordnung einen Durchbruch aufweist. Über diesen Durchbruch gelangt die Probenflüssigkeit bei Anordnung der Elektroden vor der Filtermembran an diese und bei Anordnung der Elektroden hinter der Filtermembran an eine nachgeordnete Analyseinrichtung.

In einer Weiterbildung der Vorrichtung ist vorgesehen, daß in der Siliziumscheibe ein konischer Durchbruch vorgesehen ist, der auf der Elektrodenseite seine kleinste Abmessung und auf der entgegengesetzten Seite der Siliziumscheibe seine größte Abmessung aufweist. Vorzugsweise weist der Durchbruch quadratische Querschnitte auf, wobei das Verhältnis der Seitenlänge des kleinsten Quadrates zur Seitenlänge des größten Quadrates etwa 1:30 beträgt. In einer bevorzugten Ausführungsform beträgt die Seitenlänge des kleinsten Quadrats 20 µm und des größten Quadrats 600 µm.

Das elektrische Wechselfeld weist vorzugsweise eine Frequenz von 3 bis 100 MHz auf.

Die Elektrodenanordnung kann sowohl an der Filtermembran anliegen als auch mit Abstand zur Filtermembran befestigt sein.

Weiterhin kann die Elektrodenanordnung sowohl auf der Seite der Filtermembran vorgesehen sein, die dem biotechnologischen Prozeß zugewandt ist, als auch auf der Seite, die dem biotechnologischen Prozeß abgekehrt ist.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist vorgesehen, daß die Elektrodenanordnung in einer Probenahmesonde angeordnet ist, die an ein Gefäß steril ankoppelbar ist, aus der eine Probe zu entnehmen ist, und daß die Probenahmesonde im Anschluß an die Elektrodenanordnung ein Septum sowie eine durch das Septum geführte Kanüle aufweist, die im nicht sterilen Bereich der Probenahmesonde an einer Pumpe für die Zuführung der Probe zum Trägerstrom angeschlossen ist, und daß eine Pumpe für die Zuführung des gebildeten Gemisches zu einem Sensor vorgesehen ist.

Die Vorrichtung zur Probenahme soll an einem Ausführungsbeispiel anhand von Zeichnungen erläutert werden. Es zeigen:

Fig. 1 den prinzipiellen Aufbau einer erfindungsgemäßen Vorrichtung;

Fig. 2 eine Draufsicht auf eine Elektrodenanordnung; Fig. 3 einen Schnitt durch eine Elektrodenanordnung; Fig. 4 einen Längsschnitt durch eine Probenahmesonde mit Auswerteanalytik.

In der Fig. 1 sind schematisch die Bestandteile einer Probenahmesonde 1 dargestellt. Diese weist eine Filtermembran 2 auf, die im sterilen Bereich 3 eines Bioreaktors vorgesehen ist. Der Filtermembran 2 ist ein Elektrodenarray 4 zur Übertragung eines elektrischen

Wechselfeldes 5 zugeordnet. Es durchdringt die Filtermembran 2 und hält biologisches Material 6 von dieser fern. Dadurch wird das Verblocken der Filtermembran 2 weitestgehend vermieden, so daß über lange Zeit die Entnahme von Proben 7 über die Filtermembran möglich ist. Die Proben werden in bekannter Weise in einem Injektor 8 mit integrierter Pumpe einem Trägerstrom zugeführt. Der Ausgang des Injektors ist mit einem Detektor 9 zur Analyse der Probe 7 verbunden.

Aus der Fig. 2 ist der Aufbau der Elektrodenanordnung ersichtlich. Es sind zwei kammartige Elektroden 10, 11 vorgesehen, die in einer Ebene so angeordnet sind, daß sie ineinandergreifen. Sie sind mit einer nicht dargestellten Wechselspannungsquelle verbunden. Die Zinken der Elektroden greifen so ineinander, daß sie sich nicht berühren.

In der Fig. 3 ist der Aufbau des Elektrodenarrays dargestellt. Die Elektroden 10, 11, die aus Aluminium bestehen, sind auf einer Siliziumscheibe 12 unter Zwischenlage einer Siliziumnitrid-Schicht 13 aufgebracht. Auch auf der anderen Seite der Siliziumscheibe 12 ist eine Siliziumnitrid-Schicht 14 vorgesehen. Die Siliziumscheibe weist einen Durchbruch 15 mit quadratischem Querschnitt auf. Der Durchbruch verläuft konisch, wobei er auf der Seite mit den Elektroden 10, 11 eine kleine Kantenlänge 1 aufweist, die sich bis zur entgegengesetzten Seite bis zu einer größeren Kantenlänge L linear vergrößert. Die kleine Kantenlänge 1 beträgt z. B. 20 µm und die größere Kantenlänge L 600 µm. Im Bereich dieses Durchbruches 15 wird durch das elektrische Wechselfeld das Verblocken der Filtermembran 2 verhindert.

In der Fig. 4 ist die Anordnung in einer Probenahmesonde dargestellt. Die Probenahmesonde 1 enthält das Elektrodenarray 4 im Kopf 16, der in den nicht dargestellten Bioreaktor mit der Filtermembran 2 ragt. Diese Anordnung ist sterilisierbar und weist einen Kanal 17 für eine Kanüle 18 auf, die durch ein Septum 19 in den Kanal 17 einführbar ist. Die Ankopplung der Probenahmesonde an den nicht dargestellten Bioreaktor erfolgt mittels einer Spezialverschraubung 20, die auf einen nicht dargestellten Stutzen am Bioreaktor geschraubt wird. Die sterile Ankopplung wird durch eine Rundring-Dichtung 21 gewährleistet.

Die ankoppelbare Auswerteanalytik enthält weiterhin zwei fluidische Dioden 26 für die Dosierung der Probe mittels einer Pumpe 22 und einer Kalibrierlösung mittels einer Pumpe 23. Fluidische Dioden sind aus der WO 95/22696 bekannt. Die fluidischen Dioden 26 erlauben einerseits die tropfenweise Dosierung der Probe und andererseits die tropfenweise Dosierung der Kalibrierlösung in einen nicht dargestellten Mikrokanal, wobei die Vermischung in einem nachgeschalteten Mikromischer mit dem Trägerstrom erfolgt. Die so gebildeten Gemische werden mit Hilfe einer Pumpe 24 einem Sensor 25 zugeführt.

Es ist ersichtlich, daß durch das Elektrodenarray nur ein geringer Totraum erforderlich ist. Die Verwendung der fluidischen Dioden, die kleine Abmessungen aufweisen, ermöglicht eine sehr geringe Probenmenge im µl-Bereich, so daß insgesamt der Totraum zwischen der Filtermembran und dem Sensor minimiert ist.

schon Wechselfeld ausgesetzt ist, wobei im Bereich der Filtermembran (2) eine Elektrodenanordnung (4) vorhanden ist, die mit einer Wechselspannungsquelle verbunden ist, und daß die Elektrodenanordnung (4) aus zwei kammartig ausgebildeten Einzelelektroden (10, 11) besteht, die ineinandergreifend angeordnet sind, wobei die Elektrodenanordnung (4) parallel zur Ebene der Filtermembran (2) verläuft.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektroden (10, 11) auf einer einkristallinen Siliziumscheibe (12) aufgebracht sind, die im Bereich der Elektroden einen Durchbruch (15) aufweist.

3. Vorrichtung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß in der Siliziumscheibe (12) ein konischer Durchbruch (15) ausgebildet ist, der auf der Elektroden-seite seine kleinste Abmessung und auf der entgegengesetzten Seite der Siliziumscheibe seine größte Abmessung aufweist.

4. Vorrichtung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Durchbruch (15) quadratische Querschnitte aufweist, wobei das Verhältnis der Seitenlänge des kleinsten Quadrates zur Seitenlänge des größten Quadrates 1 : 30 beträgt.

5. Vorrichtung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Seitenlänge des kleinsten Quadrates 20 µm und die des größten Quadrates 600 µm beträgt.

6. Vorrichtung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß das elektrische Wechselfeld eine Frequenz von 3 bis 100 MHz aufweist.

7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektrodenanordnung (4) an der Filtermembran (2) anliegt.

8. Vorrichtung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektrodenanordnung (4) mit Abstand zur Filtermembran (2) befestigt ist.

9. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektrodenanordnung (4) auf der Seite der Filtermembran (2) vorgesehen ist, die dem biotechnologischen Prozeß zugewandt ist.

10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektrodenanordnung (4) auf der Seite der Filtermembran (2) vorgesehen ist, die dem biotechnologischen Prozeß abgekehrt ist.

11. Vorrichtung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektrodenanordnung (4) in einer Probenahmesonde (1) angeordnet ist, die an ein Gefäß steril ankoppelbar ist, aus der eine Probe zu entnehmen ist, daß die Probenahmesonde (1) im Anschluß an die Elektrodenanordnung (4) ein Septum (19) sowie eine durch das Septum (19) geführte Kanüle (18) aufweist, die im nicht sterilen Bereich der Probenahmesonde (1) an eine Pumpe (22) für die Zuführung der Probe zum Trägerstrom angeschlossen ist, und daß eine Pumpe (24) für die Zuführung des gebildeten Gemisches zu einem Sensor (25) vorgesehen ist.

#### Patentansprüche

1. Vorrichtung zur sterilen Entnahme von Proben, insbesondere aus einem biotechnologischen Prozeß, über eine Filtermembran, dadurch gekennzeichnet, daß die Filtermembran einem elektri-

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

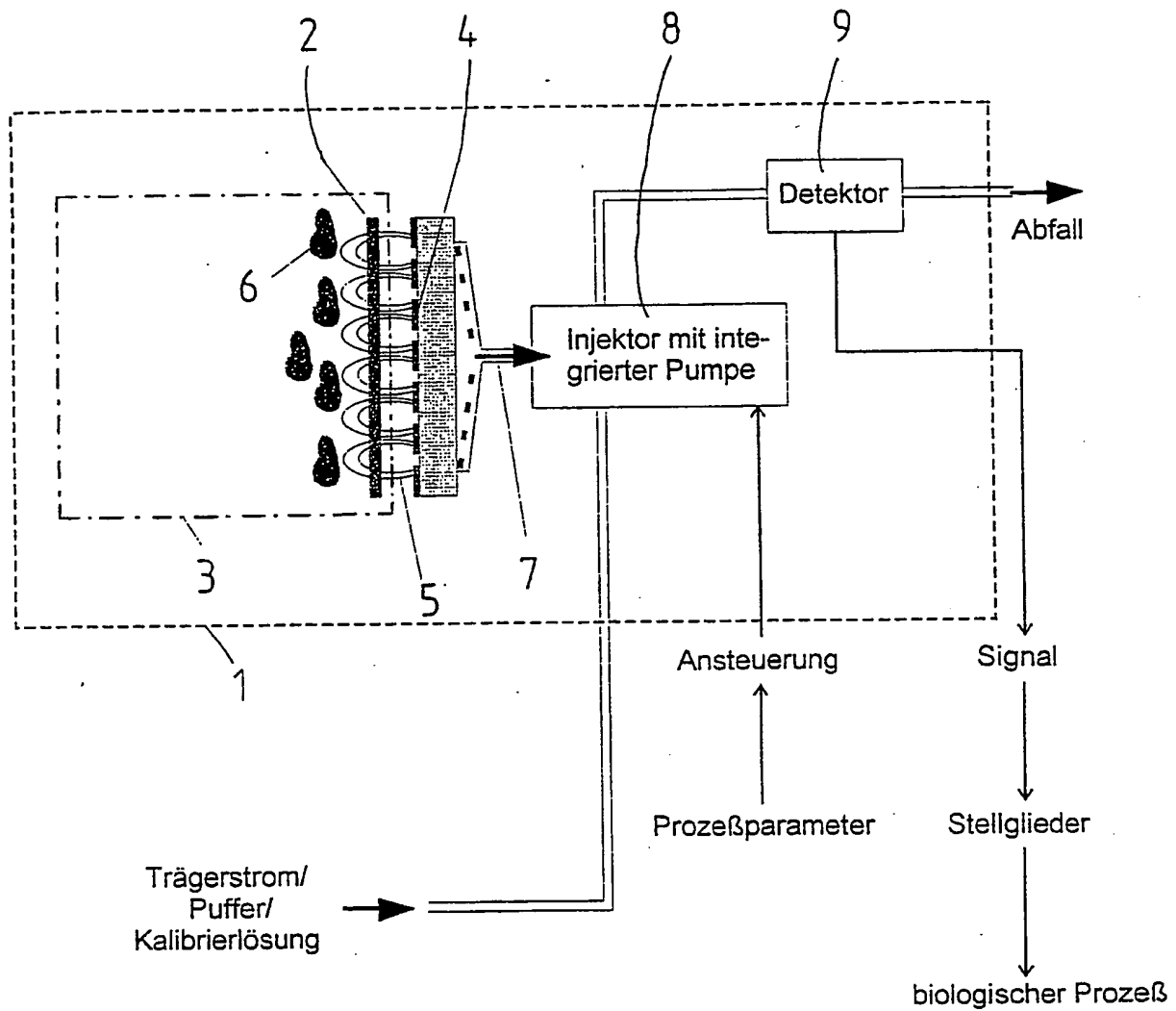


Fig. 1

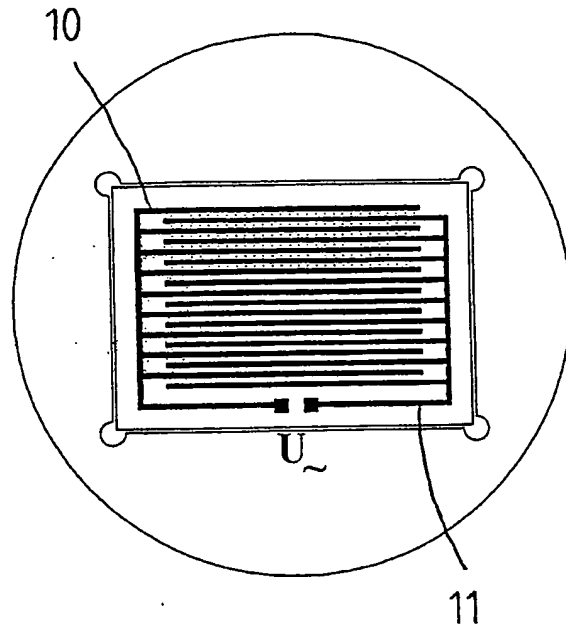


Fig. 2

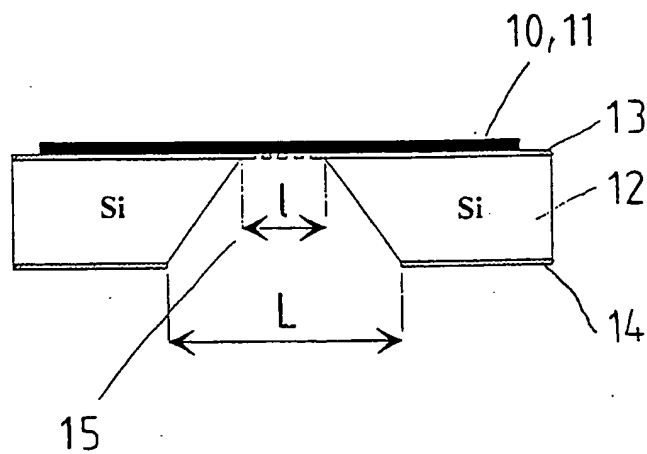


Fig. 3

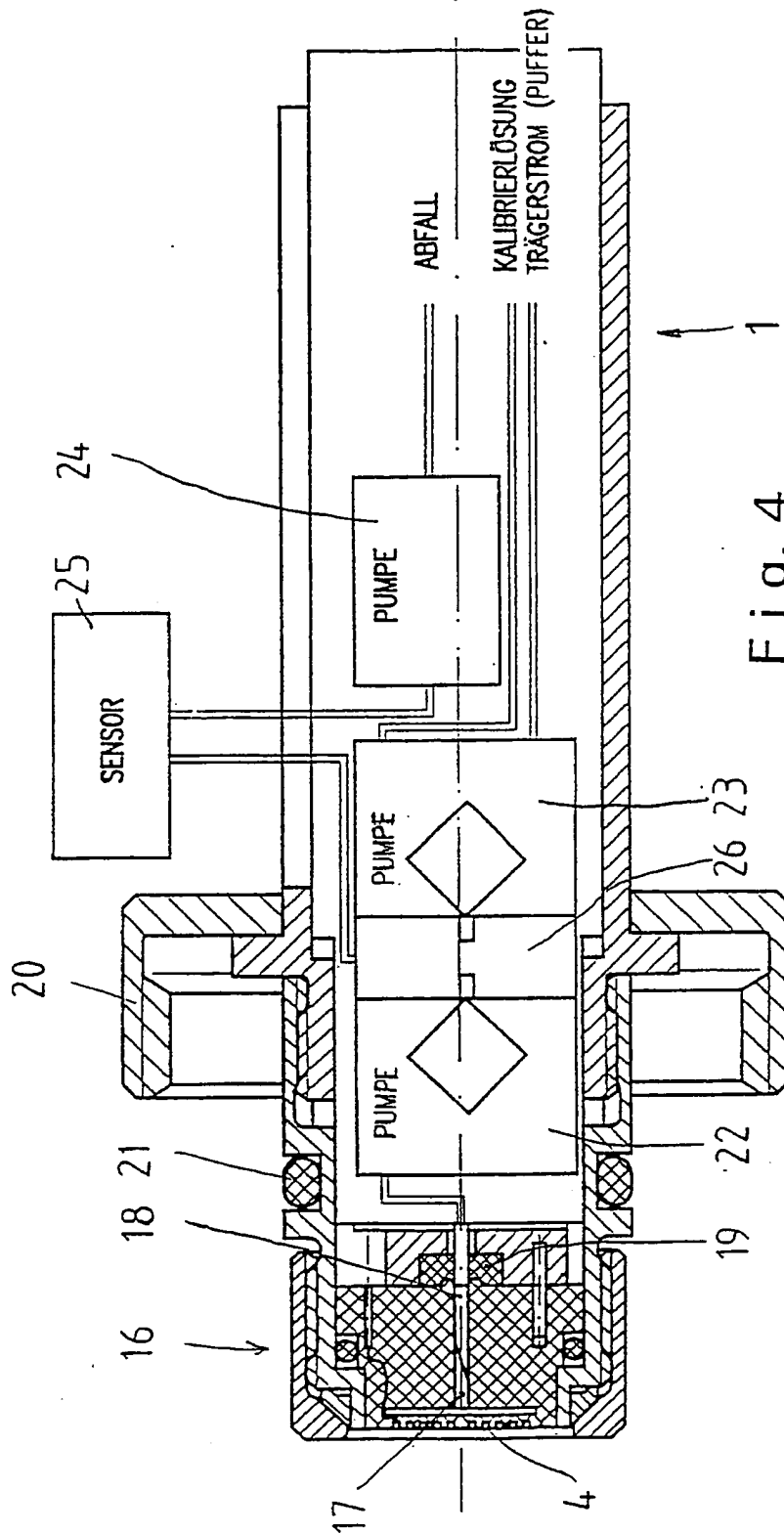


Fig. 4